プラムポックスウイルス検出キット Ver.2

for Turbidimeter

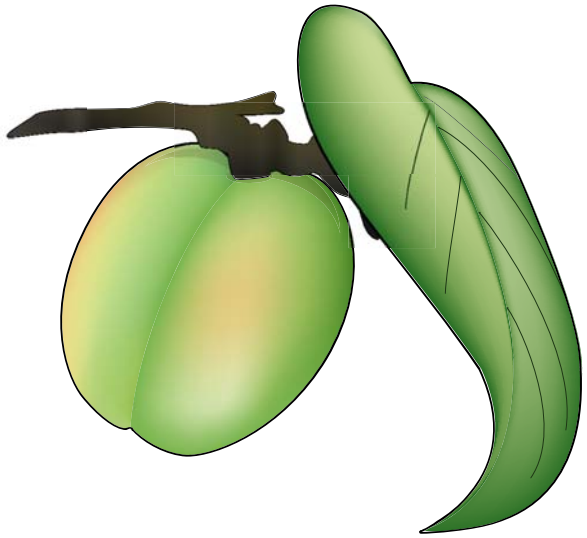
取扱説明書

version 2.0.0

製品コード

NE0131

NE0133



ニッポン・ジーン

プラムポックスウイルス検出キット Ver.2
for Turbidimeter
取扱説明書 version 2.0.0

【はじめにお読みください】

このたびは、**プラムポックスウイルス検出キット Ver.2 for Turbidimeter** をお買い上げ頂き、誠にありがとうございます。この取扱説明書をよくお読みの上、正しい方法でキットを使用してください。

使用上の注意

1. 本キットは、ＬＡＭＰ法を用いてプラムポックスウイルスを検出するための試薬です。医療行為および臨床診断等の目的では使用できません。

2. 本キットは、日本国内で採取されたプラムポックスウイルス罹病ウメ樹木の実検体を用いて性能を確認しております。ウメ以外の樹木には使用できません。

3. 本キットの保存方法は、【キット内容と保存温度】（2 ページ）に記載していますのでご確認ください。各試薬は納品後正しい温度で遮光して保存し、6 ヶ月以内に使用してください。また、過度の冷却および試薬の凍結、融解の繰り返しは避けてください。

4. 本キットを使用する際は、この**取扱説明書**の記載内容に従ってください。記載内容と異なる使用方法および使用目的により発生するトラブルに関しましては、株式会社ニッポンジーンでは一切の責任を負いかねますので、あらかじめご了承ください。

5. 本キットによる判定結果を二次利用する場合は、必ず使用者の責任の下で行ってください。キット性能の異常によって発生するトラブルの場合を除き、株式会社ニッポンジーンでは一切の責任を負いかねますので、あらかじめご了承ください。

6. 検査環境の汚染を防ぐため、検査後サンプルおよび**PPVv2T陽性コントロール**の電気泳動法等による操作やオートクレーブ高圧滅菌処理は行わないでください。

7. 本キットに含まれていない化合物を併用する場合は、使用する化合物の危険性に関して十分な知識が必要です。また、本キットに含まれている試薬に他の化合物を混合しないでください。本キットの安全な取り扱いについては株式会社ニッポンジーンホームページにて製品安全データシート（MSDS）を公開していますので、ご参照ください。
   株式会社ニッポンジーン； http://nippongene-analysis.com/

8. 本キットは食べ物ではありません。飲み込んだり、目に入れたりしないようご注意ください。検査中は皮膚等に試薬が触れないよう、白衣、手袋等で身体を保護してください。

9. ＬＡＭＰ法は栄研化学株式会社が特許を保有しています。株式会社ニッポンジーンは、ＬＡＭＰ法を用いたプラムポックスウイルス検出用試薬の開発、製造、および販売を許諾されています。

10. **プラムポックスウイルス検出キット**は、株式会社富士通システムズ・イーストが運営する、e Genome Order（**イーゲノムオーダー**）より販売しています。ご購入に関しては、株式会社富士通システムズ・イーストまでお問い合わせください。
    株式会社富士通システムズ・イースト
    e Genome Order（**イーゲノムオーダー**）； http://genome.e-mp.jp/

目次

ページ

1. キット説明……1

プラムポックスウイルス検出キット Ver.2 for Turbidimeter の概要
プラムポックスウイルスとその診断
LAMP (Loop-mediated Isothermal Amplification) 法
本キットに含まれる合成オリゴヌクレオチドに関して

2. キット内容……2

キット内容と保存温度

3. 必要な器具、機器……3

4. キット使用方法……5

簡易プロトコル……5
検査を行う前の準備および注意事項……7
サンプルの準備
器具、機器の準備
検査環境
詳細な使用方法……9
ウメ葉の磨砕
検査反応
判定

5. トラブルシューティング……14

6. 文献・資料……15

7. 付録……16

品質管理
PPVv2T陽性コントロールのコピー数

本キットに含まれているLAMPプライマーセットおよびこのLAMPプライマーセットを用いたLAMP法によるプラムポックスウイルスの検出技術は、東京大学 植物病院®により開発されました。

本キットの商品名には、plum pox virus の英名の発音に従って「プラムポックスウイルス」を使用しております。本ウイルスの和名およびその感染によるウメの病名（和名）は、日本植物病理学会により 2010 年にそれぞれ「ウメ輪紋ウイルス」および「ウメ輪紋病」に決定されています。

1. キット説明

【プラムポックスウイルス検出キット Ver.2 for Turbidimeter の概要】

本キットはLAMP法を利用してプラムポックスウイルス（plum pox virus; PPV）を検出するキットです。LAMP法はインフルエンザウイルス感染の診断およびノロウイルス、レジオネラ属菌、サルモネラ属菌、腸管出血性大腸菌等の検査にも用いられている迅速、簡便なDNA増幅技術であり、その優れた特異性と高い感度を最大の特長とします。本キットでは、逆転写酵素を用いてcDNA合成とDNA増幅を同一反応チューブ内で行うRT-LAMP法によりプラムポックスウイルスゲノムRNAの一部を増幅し、増幅の有無からプラムポックスウイルスの存在を判定します。

検出に必要な操作は、ウメの葉を専用の抽出液（**PPVv2T抽出液**）中で磨砕して爪楊枝を浸し、爪楊枝に付着したサンプルを検査溶液（**PPVv2T検査液①**、**PPVv2T検査液②**、**PPVv2T酵素液**の混合液）に添加した後に65℃で60分間保温するのみであり、きわめて簡便です。検体中にプラムポックスウイルスが存在する場合、本キットに含まれているLAMPプライマーセットによってプラムポックスウイルスゲノムRNAに特徴的な配列が増幅されます。一方で、検体中にプラムポックスウイルスが存在しない場合には、DNA増幅は起こりません。

判定にはDNA増幅の有無を白濁の発生によりモニターするリアルタイム濁度測定法を採用しており、DNA増幅反応から検出までを同一反応チューブ内の完全閉鎖系で行うため、安全に短時間でプラムポックスウイルスゲノムRNAを検出することが可能です。

【プラムポックスウイルスとその診断】

プラムポックスウイルス（plum pox virus）は、モモ、ネクタリン、プルーン、スモモ、アンズ、サクランボなどのサクラ属の果樹に甚大な被害を与える植物ウイルスであり、近年、世界的に発生が拡大しています。サクラ属の果樹では、感染により果実の早期落果や奇形、花弁への斑入り症状が起こる事例が知られています。

我が国では、2009 年 3 月に東京大学 植物病院®において、これまで世界でも自然感染の例が無かったウメからプラムポックスウイルスが検出されました。プラムポックスウイルスは接木の他、アブラムシにより媒介されることから、病気が発生した園地では感染植物の除去、ウイルスを媒介する可能性のあるアブラムシの防除を徹底する等、防除策を講じる必要があります。罹病樹から健全樹への感染拡大を防止するためには罹病樹の早期発見、除去が不可欠となります。

本キットの商品名には、plum pox virus の英名の発音に従って「プラムポックスウイルス」を使用しております。本ウイルスの和名およびその感染によるウメの病名（和名）は、日本植物病理学会により 2010 年にそれぞれ「ウメ輪紋ウイルス」および「ウメ輪紋病」に決定されています。

【LAMP (Loop-mediated Isothermal Amplification) 法】

LAMP法は、一定温度でDNA増幅反応が進行する画期的な技術です。従来の方法と比較して特異性に優れ、またその高いDNA増幅反応効率から、短時間反応および簡易検出が可能である等の利点を有しています。また、増幅する対象の遺伝子がRNAである場合には、逆転写酵素を用いることにより、cDNA合成とDNA増幅を同一反応チューブ内で行うことが可能です（RT-LAMP法）。

LAMP法の詳細な原理については、栄研化学株式会社ホームページをご参照ください。

栄研化学株式会社

Eiken GENOME SITE; http://loopamp.eiken.co.jp/

【本キットに含まれる合成オリゴヌクレオチドに関して】

本キットに含まれるプライマーは、全て「リライアブル＆トレーサブルオリゴ」を使用しています。「リライアブル＆トレーサブルオリゴ」は、株式会社ニッポンジーン マテリアルが製造する高信頼性オリゴヌクレオチド「リライアブルオリゴ」の一つです。ISO 13485:2003 に準拠した品質マネジメントシステム、専用陽圧ルームでの製造、チェックリストによる工程管理、トレーサビリティー完備を特長としています。詳細に関しましては、株式会社ニッポンジーン マテリアルホームページをご参照ください。

株式会社ニッポンジーン マテリアル; http://www.nippongenematerial.com/

2. キット内容

【キット内容と保存温度】

プラムポックスウイルス検出キット Ver.2 for Turbidimeter
48 テスト用（製品コード: NE0131）
480 テスト用（製品コード: NE0133）

試薬名 （チューブラベル）	内容量		保存温度
	48 テスト用	480 テスト用	
取扱説明書	1 部	1 部	室温
PPVv2T検査液①	1,150 µl	1,150 µl x10 本	−20°C（遮光）
PPVv2T検査液②	50 µl	50 µl x10 本	−20°C（遮光）
PPVv2T酵素液	50 µl	50 µl x10 本	−20°C（遮光）
PPVv2T抽出液	65 ml	65 ml x10 本	室温（遮光）
PPVv2T陽性コントロール	25 µl	25 µl x10 本	−20°C（遮光）

取り扱い上の注意

- 本キットでは、49 テスト分の検査溶液をまとめて作製することで、48 テスト分の検査反応を行うことが可能です。48 テスト用のキットの使用において、48 テスト分以下の検査反応を複数回に分けて行う場合、試薬が不足しますのでご注意ください。

- **取扱説明書**および **PPVv2T 抽出液**以外の試薬は−20°C で遮光して保存し、ご購入後 6 ヶ月以内に使用してください。

- 試薬は使用ごとに融解し、残った試薬は再度−20°Cで保存してください。凍結、融解の繰り返しにより製品の性能が低下する恐れがありますので、必要な場合は試薬を数回分ごとに小分けして保存してください。

- **PPVv2T 酵素液**を室温あるいは冷蔵庫等に長時間放置したり、過度の冷却で凍結させたりしないようご注意ください。酵素の働きが低下する可能性があります。

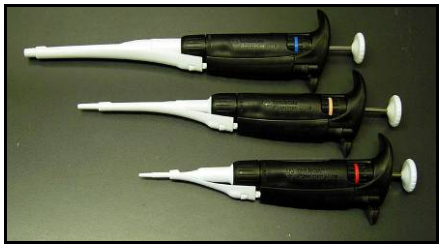
- **PPVv2T 陽性コントロール**は、プラムポックスウイルスゲノムRNAに特徴的な配列を含むRNA溶液です。検査環境への汚染を防ぐため、使用の際には溶液を飛散させたり、溶液に触れたフィルター付マイクロチップが他の器具や試薬に接触したりしないようご注意ください。

- 連続分注を行うと試薬への汚染が発生する可能性がありますので、フィルター付マイクロチップは 1 回使用するごとに廃棄してください。

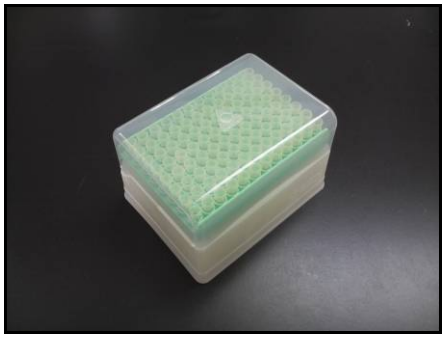
3. 必要な器具、機器

【必ずご準備頂く器具、機器】

- マイクロピペット
  (0.5–10 µl、10–100 µl、200–1,000 µl)



- フィルター付マイクロチップ（滅菌済）*



- マイクロチューブ
  (1.5 ml あるいは 2.0 ml)

- 使い捨て手袋

- LAMP 法専用リアルタイム濁度測定装置
  リアルタイム濁度測定装置 LoopampEXIA®
  リアルタイム濁度測定装置 LA-320C
  リアルタイム濁度測定装置 RT-160C
  (いずれも栄研化学株式会社)

- Loopamp 反応チューブ（栄研化学株式会社）

- スカルペル（メス）

- 磨砕容器（バッグ等）

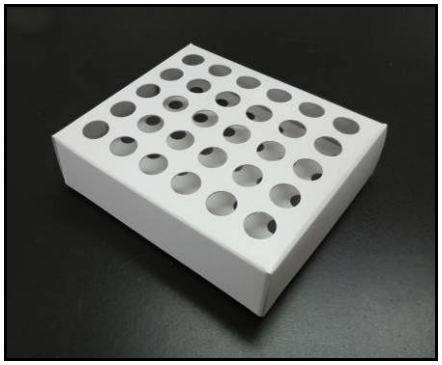
- 木製の爪楊枝

- 氷（クラッシュアイス）

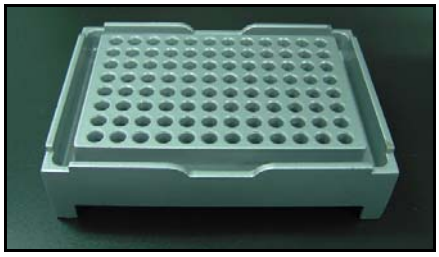
【その他の器具、機器】

下記の器具、機器は本キットの使用に必須ではありませんが、必要に応じてご準備ください。

● チューブラック



● アルミラックあるいはプレートラック



● ボルテックスミキサー

● 簡易遠心機（1.5 ml チューブ用）

● 簡易遠心機（0.2 ml チューブ用）

＊マイクロピペット、ピペットチップ、マイクロチューブなど、LAMP 法を用いた遺伝子検査を行うために必要な器具・消耗品類をまとめた**遺伝子ツールボックス**（製品コード： NE4111）も販売しております。ご購入に関しては、株式会社富士通システムズ・イーストまでお問い合わせください。

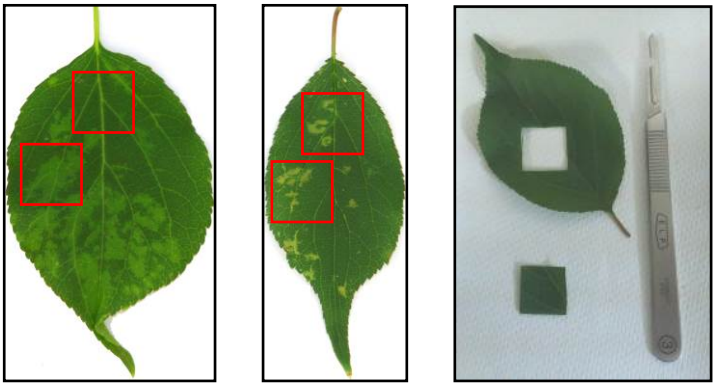
4. キット使用方法

【簡易プロトコル】

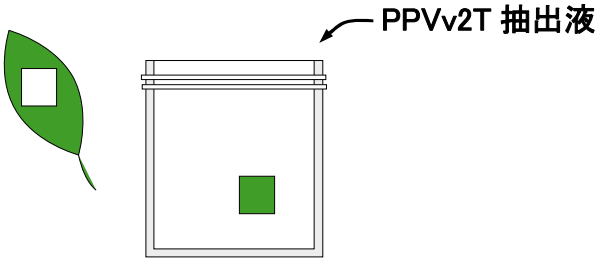
本キットの詳細な使用方法は 7 ページ以降を参照してください。

簡易プロトコル

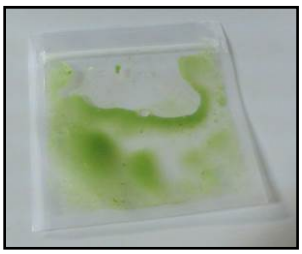
1. ウメ葉から病斑または葉脈を含む部位を採取する（2 cm x 2 cm）



2. 葉を丈夫なバッグなどに入れ PPVv2T 抽出液を 1.3 ml 添加する



3. 硬く滑らかな器具を用いて葉を十分に磨砕する



＊ 専用のハンドルホモジナイザーあるいは PPVv2T 抽出液のボトルの底など、磨砕容器（バッグなど）が破損しないものを使用する

4. 検査溶液を必要量まとめて作製する

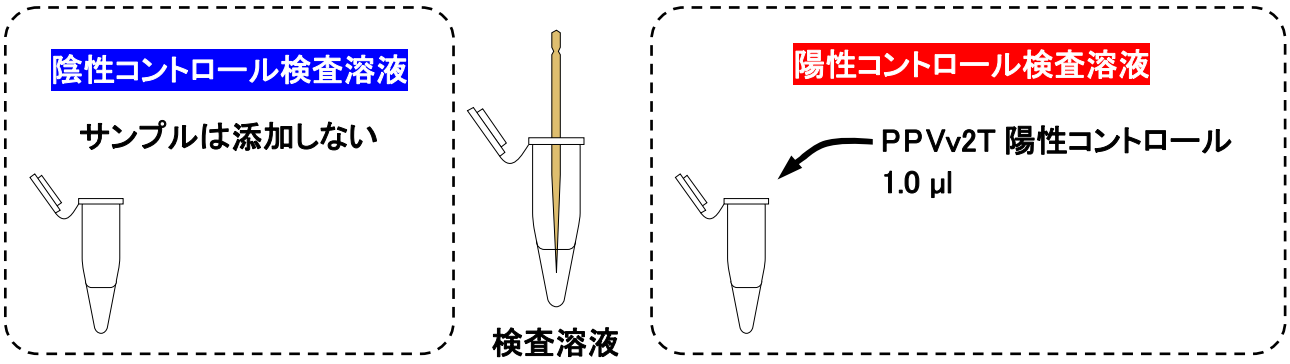
試薬	1 テストあたり	16+1 テスト*	32+1 テスト*
PPVv2T 検査液①	23.0 µl	391.0 µl	759.0 µl
PPVv2T 検査液②	1.0 µl	17.0 µl	33.0 µl
PPVv2T 酵素液	1.0 µl	17.0 µl	33.0 µl
合計	25.0 µl	425.0 µl	825.0 µl

＊ 分注時の液量の不足を防ぐため、1 テスト分多めに作製する。

5. 検査溶液を 1 テストあたり 25.0 µl ずつ分注する

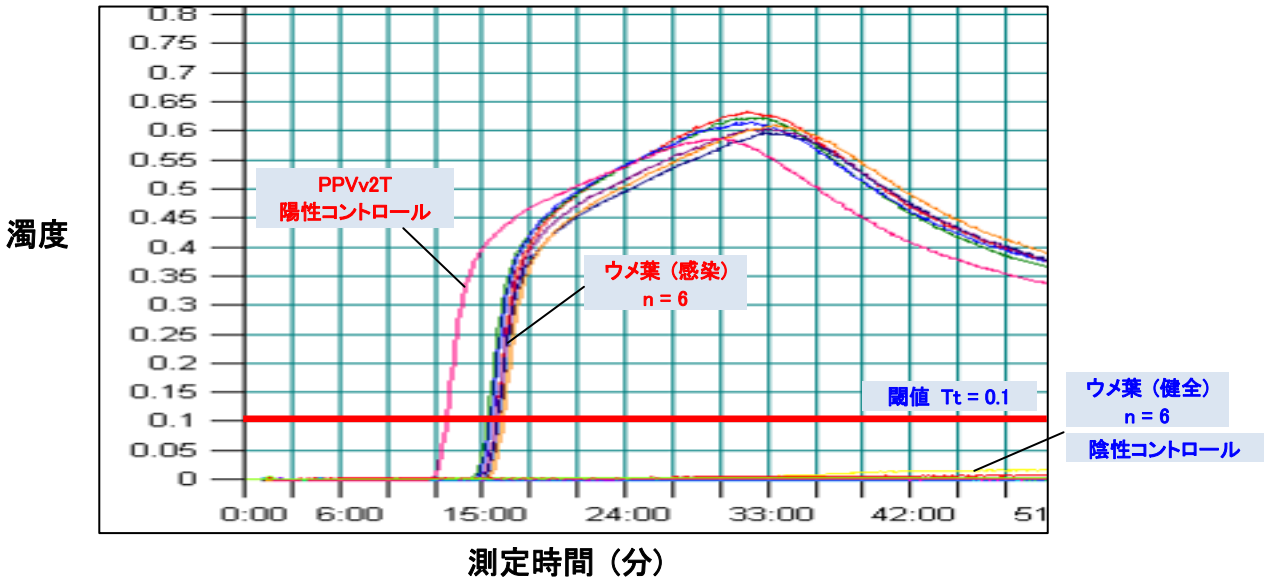
6. 爪楊枝の先端を磨砕した葉サンプルに浸漬する

7. 前工程の爪楊枝を検査溶液に浸す



8. リアルタイム濁度測定装置で 65°C、60 分間保温する（Tt = 0.1）

9. 判定（測定結果の例）



【検査を行う前の準備および注意事項】

サンプルの準備

■　コントロール

本キットには、検査の成否を確認するための**PPVv2T 陽性コントロール**が添付されています。検査の成否を確認するには、**PPVv2T 陽性コントロール**を添加する「陽性コントロール検査溶液」および**PPVv2T 陽性コントロール**とサンプルを添加しない「陰性コントロール検査溶液」の作製が重要です。

器具、機器の準備

■　LAMP 法専用リアルタイム濁度測定装置（LoopampEXIA®、LA-320C、RT-160C）

操作の詳細は各装置の取扱説明書をご参照ください。

■　器具

器具	使用方法
マイクロピペット	各区域専用とし、他の区域で使用した場合は核酸除去操作を施してから元の場所に戻してください。
チューブラック	各区域専用とし、他の区域で使用した場合は核酸除去操作を施してから元の場所に戻してください。
チューブ	市販のガンマ線滅菌済チューブ等、核酸フリー、ヌクレアーゼフリーのグレードを選択してください。
フィルター付マイクロチップ（滅菌済）	市販のガンマ線滅菌済疎水性フィルター付チップ等、核酸フリー、ヌクレアーゼフリーのグレードを選択し、各区域にて開封してください。また、連続分注を行うと試薬への汚染が発生する可能性がありますので、1 回使用するごとに廃棄してください。
筆記用具	各区域専用とし、持込書類を置く専用のスペースを確保してください。
手袋	使い捨てとし、汚染が疑われる場合はすぐに手袋を交換してください。
白衣	各区域専用とし、袖口からの汚染に注意してください。

検査環境

LAMP法は高感度なDNA増幅技術であるため、検査環境に **PPVv2T 陽性コントロール**や検査後サンプル等、鋳型となる核酸の汚染が発生すると、以降正確な検査を行うことが困難になります。サンプルの取り扱いにおいては、作業用の着衣および器具への付着に十分注意し、着衣の交換を徹底してください。以後の検査における誤判定を防止するため、使用済みのチップ、チューブ、検査後サンプルは二重にしたビニール袋にまとめて廃棄してください。また、検査後サンプルおよび **PPVv2T 陽性コントロール**の電気泳動法等による操作やオートクレーブ高圧滅菌処理は行わないでください。

■ 作業区域

核酸抽出および核酸増幅を実施していない（核酸による汚染が存在しない）クリーンベンチあるいは作業台を試薬調製作業区域とし、検査溶液は試薬調製作業区域にて作製してください。試薬調製作業区域では **PPVv2T 陽性コントロール**およびLAMP法において鋳型となる核酸を含む溶液、試薬類の取り扱いは行わないでください。

検査溶液へのサンプルおよび **PPVv2T 陽性コントロール**の添加を行うスペースは試薬調製作業区域と区分し、専用の核酸取扱区域を設けてください。

■ 核酸除去操作

器具は常に清潔に保ってください。洗浄が可能である器具は大量の水道水でよくすすぐことにより、付着した核酸を希釈、除去できます。

高濃度の核酸を取り扱った場合など、核酸による汚染が疑われるような場合には、1%次亜塩素酸ナトリウム水溶液を用いて検査環境中に存在する核酸の除去操作を行います。次亜塩素酸ナトリウム水溶液を使用する際には、塩素ガスが発生しますので換気に十分注意してください。また、金属に対する腐食性があるため、金属に対して使用した場合、迅速に塩素成分を拭き取る等の対応が必要です。高温環境下における劣化が著しいため、1%次亜塩素酸ナトリウム水溶液調製後の経過日数や保存温度に注意してください。

＜方法＞

i) 使い捨て手袋を装着します。
ii) 有効塩素濃度 10,000 ppm（1%）の次亜塩素酸ナトリウム水溶液を準備します。
iii) 次亜塩素酸ナトリウム水溶液を含ませたペーパータオルで作業台、器具を丁寧に拭き、余分な塩素成分は 70%エタノールを含ませたペーパータオルで拭き取ります。
iv) 非金属の器具は次亜塩素酸ナトリウム水溶液に 1 時間以上浸し、よくすすいで乾燥します。
v) 作業台、器具は常に清潔に保ち、定期的に次亜塩素酸ナトリウム水溶液による拭き取り清掃を行います。

【詳細な使用方法】

ウメ葉の磨砕

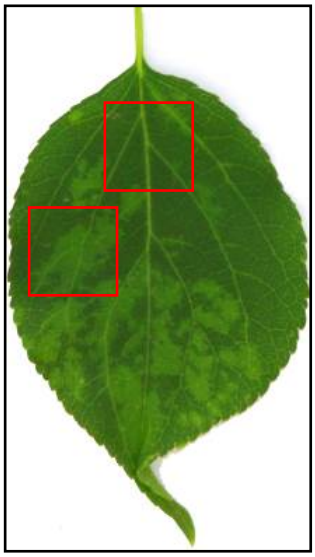
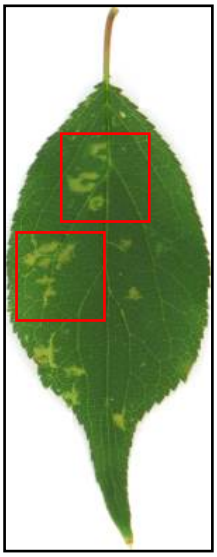
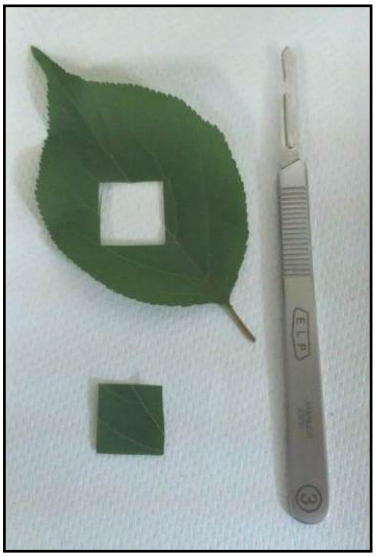
本キットは、プラムポックスウイルスの粒子をウメ葉組織から抽出し、効率よく検出を行うためにウメ葉を簡易に磨砕するための **PPVv2T 抽出液**及び抽出プロトコルを備えています。

重要

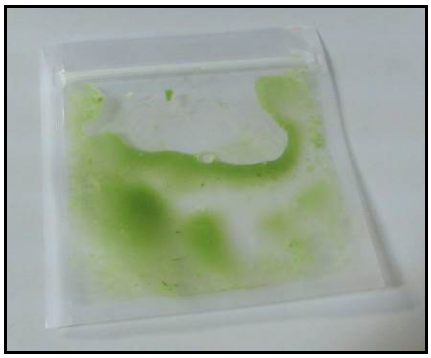
PPVv2T 抽出液が室温よりも低い温度（10°C 以下など）に保管されていた場合は、室温に戻してから使用してください。

ウメ葉の採取

使い捨ての清潔なスカルペル（メス）などを用いて、ウメ葉から病斑または葉脈を含む葉片（2 cm x 2 cm）を採取します。葉片を 1 枚ごとに丈夫なバッグなどに入れて **PPVv2T 抽出液**を 1.3 ml 添加し、しっかりと封をしてください。

磨砕

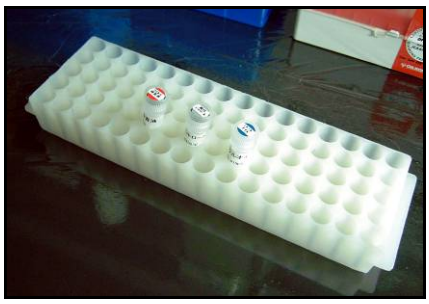


硬く滑らかな器具*を用いてバッグの上から強く磨砕し、葉片を十分に磨砕して均一な状態にしてください。

＊専用のハンドルホモジナイザーあるいは PPVv2T 抽出液のボトルの底など、バッグが破損しないものを使用してください。

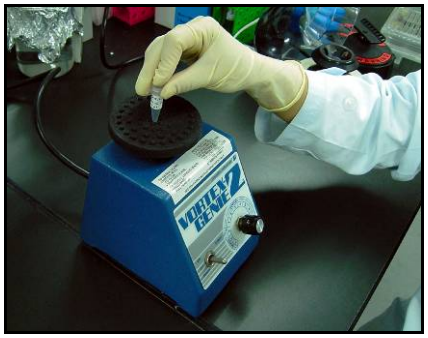
検査反応

試薬の融解



PPVv2T 検査液①、PPVv2T 検査液②、PPVv2T 陽性コントロールを取り出し、室温で完全に融解します。**PPVv2T 酵素液**は−20℃では凍結しないため、使用する直前にキットから取り出します。

混合とスピンダウン



チューブの腹を指で数回軽く叩く（以下タッピング）あるいはボルテックスミキサーにて 1 秒間 x 3 回の撹拌により混合し均一にした後、簡易遠心機を用いて溶液をチューブの底に集め（以下スピンダウン）、試薬を氷上に静置します。

検査溶液の作製

マイクロチューブ（1.5 ml あるいは 2.0 ml）に下記の試薬を必要テスト数分ずつ分注し、タッピングあるいはボルテックスミキサーにて 1 秒間 x 3 回の撹拌により混合した後、スピンダウンを行います。これを検査溶液とし、氷上に静置しておきます。

＜容量＞

試薬	1 テストあたり	16+1 テスト*	32+1 テスト*
PPVv2T 検査液①	23.0 µl	391.0 µl	759.0 µl
PPVv2T 検査液②	1.0 µl	17.0 µl	33.0 µl
PPVv2T 酵素液	1.0 µl	17.0 µl	33.0 µl
合計	25.0 µl	425.0 µl	825.0 µl

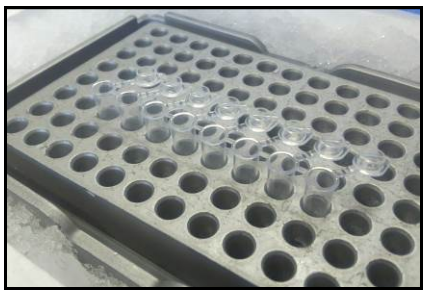
＊　分注時の液量の不足を防ぐため、1 テスト分多めに作製する。

重要

連続分注を行うと試薬への汚染が発生する可能性がありますので、フィルター付マイクロチップは 1 回使用するごとに廃棄してください。

PPVv2T 酵素液は粘性が高いため、分注の際、フィルター付マイクロチップの周りに過剰に付着しないようご注意ください。また、使用前にスピンダウンを行ってください。

検査溶液の分注

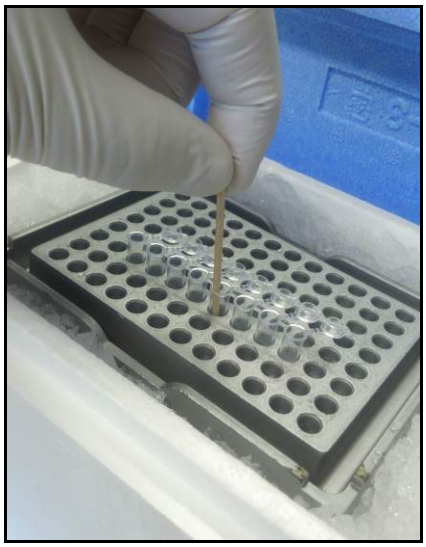


核酸の汚染がないピンセットを用いて Loopamp 反応用チューブを袋から取り出し、アルミブロックあるいはプレートラックに立て、検査溶液を 25.0 µl ずつ分注します。

重要

Loopamp 反応用チューブと容量、形状、および材質の異なるチューブを使用すると、誤判定の原因となる場合がありますので、使用しないでください。

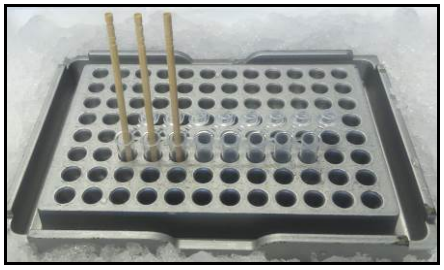
サンプルの添加



前工程で磨砕した葉サンプルを爪楊枝の先端に浸漬し、爪楊枝を検査溶液に浸して Loopamp 反応用チューブの底に軽くこすり付けます。その後、爪楊枝は速やかに取り出し、ビニール袋にまとめて廃棄します。サンプル添加後、キャップを閉じます。

コントロールを作製する場合は、

i) サンプル添加の前に陰性コントロール検査溶液のチューブのキャップを閉じます。
ii) 爪楊枝でサンプルを添加し、キャップを閉じます。
iii) 最後に、陽性コントロール検査溶液のチューブに **PPVv2T 陽性コントロール**を 1.0 µl 添加し、キャップを閉じます。



重要

爪楊枝を浸した状態で放置すると検査溶液を吸収するため、検査溶液の液量が減少し、判定が困難になります。サンプルを添加した後は爪楊枝を検査溶液中に放置しないよう、ご注意ください。

検査反応

全てのキャップを閉じた状態で 5 回転倒混和した後に、スピンダウンを行い、リアルタイム濁度測定装置を用いて 65°C で 60 分間保温します。

重要

混合の際は気泡が発生しないように注意してください。ボルテックスミキサーによる撹拌は行わないでください。

判定

検査の成否の判定

最初に、陽性コントロール検査溶液で濁度が上昇し、陰性コントロール検査溶液で濁度が上昇していないことを確認してください。これを満たしていない場合は検査結果を無効とし、原因を究明してください。

サンプルの判定

コントロールの判定においてその検査が有効とされた場合、次に、サンプルの判定を行います。判定はコントロールと同様に濁度上昇の有無を確認してください。陽性のサンプルに関しては Tt 値を確認してください。Tt が 0.1 を超えている場合、サンプル中にプラムポックスウイルスが存在する可能性があります。

＜判定のポイント＞

明確な濁度の上昇が認められるサンプル

「**プラムポックスウイルス陽性**」と判定します。
仮に増幅の立ち上がりが遅いサンプルであっても、陰性コントロール検査溶液と比較した際に差異が認められる場合には、対象とするウメ樹木から別の葉を採取して再度検査を行ってください。

陰性コントロール検査溶液と比較して濁度に有意な差が認められないサンプル

「**プラムポックスウイルス陰性**」と判定します。
ただし、プラムポックスウイルスはウメ樹木中に不均一に分布している場合があります。病徴の有無をよく観察し、感染が疑われる場合は再度複数箇所の葉を採取して検査を行ってください。

重要
本キットの判定結果に関わらず、プラムポックスウイルスの感染が疑われる場合には、東京大学　植物病院®までご相談ください。

東京大学　植物病院®；http://papilio.ab.a.u-tokyo.ac.jp/cps/hospital/
住所：　東京都文京区弥生1-1-1
TEL：　03-5841-0567
E-mail：　byoin@todaiagri.jp

5. トラブルシューティング

本キットの使用において何らかの問題が発生した場合は、以下の項目に従って対処してください。その他の不明な点については株式会社ニッポンジーンまでお問い合わせください。

問題点	原因および対処法
陽性コントロールで濁度の上昇が見られない 陰性コントロールで濁度が上昇している	**A. PPVv2T 陽性コントロールの添加量が過剰である。** PPVv2T 陽性コントロールの添加量が過剰になると検査反応の効率が低下する場合があります。PPVv2T 陽性コントロールの添加量は取扱説明書の指示に従ってください。 **B. 試薬あるいは検査環境に汚染が存在する。** 陰性コントロール検査溶液で濁度の上昇が認められる場合、鋳型となる核酸の混入が疑われます。試薬および検査環境の汚染モニタリング、1%次亜塩素酸ナトリウム水溶液による検査器具、機器類の拭き取り操作を行い、汚染を完全に除去した後に検査を実施してください。 **C. 反応温度、操作手順に誤りがある。** 検査の工程で問題が発生していないか確認してください。
試薬が不足する	**A. チューブ内壁に試薬が飛散、付着している。** 使用前にスピンダウンを行ってください。 **B. 保存中に試薬が蒸発している。** 使用後はキャップを完全に閉じてください。

6. 文献・資料

1. Maejima K, Hoshi H, Hashimoto M, Himeno M, Kawanishi T, Komatsu K, Yamaji Y, Hamamoto H, Namba S. (2010) First report of plum pox virus infecting Japanese apricot (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) in Japan. *J Gen Plant Pathol.* **76** (3): 229

2. Maejima K, Himeno M, Komatsu K, Takinami Y, Hashimoto M, Takahashi S, Yamaji Y, Oshima K, Namba S. (2011) Molecular epidemiology of plum pox virus in Japan. *Phytopathology*. **101** (5): 567

3. Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N, Hase T. (2000) Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res*. **28** (12): e63

4. Prince AM, Andrus L. (1992) PCR: how to kill unwanted DNA. *Biotechniques.* **12** (3): 358

7. 付録

【品質管理】

キットに添付の **PPVv2T 陽性コントロール** 1.0 µl を鋳型として 25.0 µl (1 テスト分) の容量でDNA増幅反応を行い、65°C、60 分間で濁度が上昇することを確認しています。

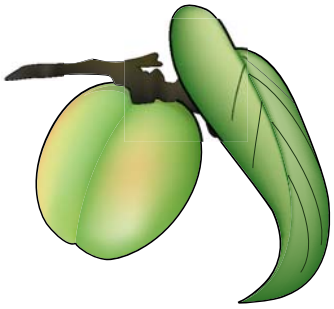
【PPVv2T 陽性コントロールのコピー数】

PPVv2T 陽性コントロールには、1.0 µl あたり 1x 10^9 コピーの標的配列が含まれています。

ニッポン・ジーン

プラムポックスウイルス検出キット Ver.2

for Turbidimeter



- 記載内容や製品仕様、価格に関しては予告なく変更する場合があります。
- 本取扱説明書の記載内容は 2015 年 5 月現在のものです。最新の取扱説明書は株式会社ニッポンジーンホームページからダウンロードしてください。
- 「ニッポンジーン」および「NIPPON GENE」は、株式会社ニッポンジーンの日本における登録商標です。
- その他、製品名等の固有名詞は各社の商標あるいは登録商標です。
- 記載内容および写真の複製、転載を禁止します。

本キットに関するお問い合わせ先	
株式会社ニッポンジーン	
TEL	076-451-6548
FAX	076-451-6547
E-mail	support@nippongene-analysis.com
URL	http://nippongene-analysis.com/

ご購入に関するお問い合わせ先	
株式会社富士通システムズ・イースト	
TEL	03-6712-3885
FAX	03-6712-3886
E-mail	feast-egenome@cs.jp.fujitsu.com
URL	http://genome.e-mp.jp

Copyright © 2015 NIPPON GENE CO., LTD. All Rights Reserved.